UNIVERSITÉ DE BERNE FACULTÉ DE MÉDECINE
INSTITUT DE PHYSIOLOGIE (HALLERIANUM) Directeur : M. le professeur A. de MURALT

A propos de la mise en évidence de l'action anticholinergique de l'aneurine vagale

THÈSE

PRÉSENTÉE A LA FACULTÉ DE MÉDECINE
DE L'UNIVERSITÉ DE BERNE
POUR OBTENIR LE TITRE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

ÉMILE GAUTIER
de GENÈVE

GENÈVE
IMPRIMERIE ROULET & Cie
Rue Caroline 6bis
1950

UNIVERSITÉ DE BERNE
INSTITUT DE PHYSIOLOGIE (HALLERIANUM)

FACULTÉ DE MÉDECINE
Directeur : M. le professeur A. de MURALT

A propos de la mise en évidence de l'action anticholinergique de l'aneurine vagale

THÈSE

PRÉSENTÉE A LA FACULTÉ DE MÉDECINE
DE L'UNIVERSITÉ DE BERNE
POUR OBTENIR LE TITRE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

ÉMILE GAUTIER
de GENÈVE

GENÈVE
IMPRIMERIE ROULET & Cie
Rue Caroline 6bis
1950

La Faculté de Médecine de l'Université de Berne, sur la proposition de M. le professeur A. de Muralt, autorise l'impression de cette thèse.

Berne, le 13 juillet 1949.

Le Doyen : Prof. Dr J. DETTLING

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

à ROSEMARY

Je tiens à remercier vivement le professeur A. de Muralt, les assistants et le personnel du Hallerianum pour leur aide précieuse dans l'exécution de ce travail.

E. G.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548822_0070

INTRODUCTION

La découverte par v. Muralt et ses collaborateurs (1, 2, 3) qu'un nerf plongé dans l'air liquide pendant qu'il est stimulé a une teneur plus élevée en aneurine extrahible qu'un nerf non stimulé traité de façon identique, a montré que la thiamine joue vraisemblablement un rôle important durant l'état d'action (Aktionszustand, état pendant lequel le nerf conduit l'influx nerveux). On a constaté également que l'aneurine diffusait dans le milieu ambiant du nerf en plus grande quantité pendant la stimulation que pendant le repos. Minz (4) a le premier montré que la tranche de section d'un nerf vague de bœuf, baignant dans du Ringer, livre à celui-ci une substance qui a les propriétés de l'aneurine et que cette substance est fournie en plus grande quantité lorsque le nerf est stimulé. Wyss et v. Muralt (5) ont montré qu'une substance qui a les caractères de l'aneurine (elle fait croître Phycomyces ; alcalinisée et oxydée, elle se transforme en thiochrome soluble dans l'isobutanol) diffuse en plus forte quantité dans le liquide de perfusion du cœur de grenouille pendant la stimulation du vague. Une stimulation intermittente de 5 minutes fournit 2.10^{-9} gr. d'aneurine par cm^3 de liquide de perfusion. A. et F. Wyss (6) ont obtenu cette valeur après avoir éliminé l'erreur de mesure que cause la présence de traces de sang dans le liquide de perfusion, traces qui y apparaissent pendant que le cœur perd de son tonus, sous l'effet de la stimulation vagale. Wyss et v. Muralt (5) ont appelé cet équivalent de l'aneurine la deuxième substance d'action vagale.

Moniz de Bettencourt (7) a observé, sur le cœur de tortue, et dans le 27 % seulement de ses expériences, que le liquide de perfusion provenant d'une période où le vague était stimulé contenait plus d'aneurine que le liquide provenant d'une période de repos.

Si, au moment de la stimulation, l'aneurine est émise, en même temps que l'acétylcholine, par les fibres cholinergiques (pour le moment, ceci n'a été montré qu'au niveau du cœur

de grenouille et de tortue), on peut se demander si elle joue un rôle de médiateur chimique. Le problème se pose tout particulièrement de savoir si elle influence l'action de médiateur de l'acétylcholine.

La fonction physiologique reconnue à la vitamine B_1 est son rôle de coferment dans les processus de décarboxylation de l'acide pyruvique, et d'oxydation de l'acétaldéhyde formé en acide acétique. Elle exerce ce rôle sous forme de cocarboxylase. Dans son rôle éventuel de médiateur chimique, la deuxième substance d'action vagale intervient-elle sous forme de cocarboxylase, avec sa fonction de coferment, ou bien a-t-elle un autre mode d'action ?

Les expériences touchant à l'influence de l'aneurine synthétique sur l'action de l'acétylcholine ont donné des résultats opposés : les uns faisant conclure à un synergisme, les autres à un antagonisme. Minz et ses collaborateurs (8, 9), sur le muscle dorsal de sangsue, et l'intestin isolé de chat, Brücke et Sarkander (10) et v. Muralt (11) sur le muscle dorsal de la sangsue, ont observé un synergisme. L'extrait d'un nerf excité (où d'autres méthodes mettent en évidence de l'aneurine) sensibilise le muscle à des doses ultérieures d'acétylcholine. Cette sensibilisation n'apparaît pas d'une fois, mais s'accentue au fur et à mesure que les doses sont répétées. Le lavage ne fait pas disparaître l'effet sensibilisateur conféré par le bain dans un extrait de nerf excité. L'aneurine synthétique, à des concentrations égales ou inférieures à 10^{-5}, et donnée simultanément avec l'acétylcholine, en renforce l'action. Ce renforcement est particulièrement marqué lors du premier essai avec l'association acétylcholine-aneurine.

Minz (12) observe que l'effet sensibilisateur ne croît pas avec la dose, et que si la dose est trop forte, l'effet s'inverse : un antagonisme se manifeste. Dans une autre série d'expériences, Minz (13, 14) montre que, en présence de cocarboxylase, de l'acétylcholine est formée à partir de la choline ajoutée au bain d'un muscle de sangsue, ou d'un intestin isolé de lapin. En outre, la cocarboxylase accentue l'action des substances qui agissent en augmentant la production d'acétylcholine par le plexus autonome. Il en conclut que la cocarboxylase, activant la production de radicaux acétyl, augmente l'apport des constituants nécessaires à la synthèse de l'acétylcholine, et exerce ainsi son action synergique. Abderhalden (15) observe que des fragments d'intestin de pigeons avitaminotiques ont un seuil plus élevé de réponse à l'acétylcholine que les intestins de pigeons normaux, et que cette différence est corrigée par l'apport de vitamine B_1.

Pour résumer, le synergisme ne s'observe que si l'on utilise l'aneurine ou la cocarboxylase, et à des concentrations égales ou inférieures à 10^{-5}. Il semble que le synergisme soit plus facilement mis en évidence sur des organes carencés en vitamine B_1. Sadhu (16) pense que cela provient de l'accumulation d'acide pyruvique dans les organes carencés, d'où une production plus forte de radicaux acétyl en présence de cocarboxylase. Tout apport supplémentaire, après que le taux normal en vitamine B_1 a été reconstitué, est sans effet, et peut même, si on accroît la dose, inverser l'action. La vitamine une fois fixée sur l'organe ne peut pas en être éliminée par le lavage.

L'antagonisme, observé par un grand nombre d'auteurs, se rencontre dans d'autres conditions, mieux déterminées. Il faut employer de hautes concentrations d'aneurine. Sur le cœur de grenouille, par exemple, Agid et Balkany (17), puis Kaiser (18) ont mis en évidence l'action anticholinergique de concentrations d'aneurine de 10^{-3} et 10^{-4}. L'acétylcholine et l'aneurine doivent être données simultanément; tout lavage interposé entre l'application de l'une et de l'autre fait disparaître l'effet antagoniste. Celui-ci n'est pas réalisé spécifiquement par l'aneurine : Dufait (19) a montré que d'autres bases quaternaires avaient cette propriété. Raaflaub (20) et Läser (21), sur le cœur de grenouille, obtiennent un effet anticholinergique avec les constituants de la molécule d'aneurine, thiazol et pyrimidine, à condition qu'ils possèdent quelques caractéristiques bien déterminées, et avec les produits résultant de l'irradiation de l'aneurine par l'ultraviolet (Stämpfli [22]). Cette propriété anticholinergique fait par contre complètement défaut à la cocarboxylase, à quelque concentration qu'on l'utilise.

Il y a des relations quantitatives entre l'effet anticholinergique observé et la concentration d'aneurine utilisée (Bein [23] et Läser [21]). L'antagonisme s'observe sur les intestins normaux comme sur les intestins carencés en vitamine B_1 (Bayo, Holmdahl, Gautier [24]). Il semble que tous les corps mentionnés exercent cette activité anticholinergique en soustrayant une partie des effecteurs disponibles à l'action de l'acétylcholine (Dufait [19]). Ce n'est nullement une propriété spécifique de l'aneurine et la cocarboxylase n'exerce pas cet effet.

Nous avons poursuivi les recherches commencées avec Bayo et Holmdahl (24), sur l'intestin isolé de rat. Il s'agissait de préciser les modalités et le mécanisme de l'antagonisme observé. Il était nécessaire de disposer, sur un organe d'animal à sang chaud, d'un test, si possible quantitatif, pour mettre en évidence les éventuelles propriétés anticholinergiques de la

deuxième substance d'action vagale, qu'elle provienne du cœur de grenouille, ou qu'on la découvre dans les organes où les travaux classiques ont mis en évidence la libération d'acétylcholine lors de la stimulation des fibres cholinergiques.

La quantité d'aneurine émise dans le liquide de perfusion du cœur de grenouille, pendant une stimulation vagale, est beaucoup trop faible pour qu'on envisage, si l'aneurine émise était tout à fait identique au produit synthétique, qu'elle puisse exercer une action anticholinergique quelconque. Néanmoins, les expériences de Cottier et v. Muralt (25) peuvent laisser envisager que la deuxième substance d'action vagale soit constituée par une combinaison chimique particulière, qui lui confère, à la concentration de 10^{-9}, les propriétés de l'aneurine synthétique à la concentration de 10^{-4}. Le fait essentiel de ces expériences est que l'échantillon de Ringer prélevé dans la canule après une stimulation du tronc vago-sympathique, mais dont le résultat semble être purement vagal, présente, après qu'on l'a laissé séjourner 2 à 3 heures à la température du laboratoire, des propriétés anticholinergiques. Si cet échantillon est mis dans la canule d'un cœur receveur et qu'on y ajoute une dose déterminée d'acétylcholine, l'effet inotrope négatif obtenu est moindre que celui produit par cette même dose ajoutée à du Ringer. Cette expérience est fondamentale ; si l'on parvient à montrer que l'effet anticholinergique observé n'est dû qu'à la présence de la deuxième substance d'action vagale, et non pas à d'autres facteurs, dont la sympathine, on pourra en conclure à l'identité d'action du deuxième vagusstoff et de l'aneurine à haute dose.

Il nous a semblé notamment qu'il fallait savoir si la sympathine, libérée lors de la stimulation du tronc vago-sympathique, n'était pas la cause de l'action anticholinergique observée, la méthode employée par Cottier et v. Muralt (25) pour exclure son action ne nous semblant pas satisfaisante.

Auparavant, nous avons cherché à vérifier, avec une méthode de dosage biologique tout à fait spécifique de l'aneurine, l'apparition de la deuxième substance d'action vagale dans le liquide de perfusion du cœur de grenouille, à la suite d'une stimulation des fibres du vague.

MÉTHODES

Essais avec des fragments isolés d'intestins de rat :

Nous avons utilisé soit des intestins frais, soit des intestins dont le plexus autonome ne fonctionnait plus. Toutes les préparations provenaient de rats normaux.

Préparations fraîches :

Les fragments de jejunum sont prélevés aussitôt après la mise à mort du rat par concussion. Ils sont suspendus dans un bain de Tyrode oxygéné, de telle sorte que les mouvements de la musculature longitudinale soient enregistrés sur un tambour noirci par un levier exactement balancé (l'intestin ne doit être distendu à aucun moment de la préparation ou des essais). Le débit des bulles d'oxygène est maintenu constant, des variations de l'oxygénation, et du stimulus mécanique que constituent les bulles, amenant de grandes variations du tonus et de l'activité spontanée. Le bain est entouré d'un manchon où circule de l'eau maintenue à 38° C. Le Tyrode de lavage, et les solutions à essayer, sont maintenues à la même température. Tout échantillon dont on veut déceler l'effet contracturant ou relaxateur doit avoir exactement la température du bain auquel on l'ajoute. S'il est trop chaud (de quelques dixièmes de degré centigrade) il provoque, de ce fait, une relaxation ; s'il est trop froid, il provoque une contraction. Aussi l'échantillon dont l'effet est à analyser est toujours placé quelques minutes dans une petite seringue dont le manchon est branché en série, dans la circulation d'eau chaude, avec celui du bain.

Le pH du Tyrode et de toutes les solutions est compris entre 7 et 7.2, (contrôlé électrométriquement) ; la capacité du bain est de 10 cm^3. Les concentrations indiquées dans les résultats sont toujours celles des substances dans le bain. Entre chaque essai on renouvelle trois fois au moins le Tyrode du bain, pour laver la préparation.

Préparations dont le plexus autonome ne fonctionne plus :

Dikshit (26) a montré qu'après avoir été maintenu à 1 ou 2° C pendant 98 heures au moins, un fragment intestinal isolé a perdu la propriété d'élaborer de l'acétylcholine, mais qu'il continue à répondre à l'acétylcholine et à l'adrénaline. Sollmann (27) envisage que le plexus d'Auerbach est dégénéré et n'est plus physiologiquement actif, alors que la musculature peut encore se contracter. L'acétylcholine agit alors seulement sur le muscle. De telles préparations peuvent encore présenter des contractions rythmiques, d'origine myogène. Nous avons utilisé comme critère de non-fonctionnement du plexus le fait que l'ésérine (concentration 10^{-7} ou 10^{-6}) n'élève plus le tonus de telles préparations, ce qu'elle produit régulièrement sur l'intestin frais, en permettant l'accumulation de l'acétylcholine élaborée par le plexus (cf. Ambache [28]).

L'expérience montre que l'on ne peut utiliser des fragments immédiatement refroidis après leur prélèvement. Il faut les traiter comme des préparations fraîches, et leur faire faire quelques contractions acétylcholiniques. Ces préparations ne doivent pas être ligaturées à leurs extrémités, et sous l'effet de l'acétylcholine elles expulsent dans le bain le bol qu'elles contiennent. Elles se conservent alors plusieurs jours à 2 ou 3° C sans que la solution de Tyrode ne perde de sa limpidité. Des préparations immédiatement refroidies, ou simplement lavées, meurent beaucoup plus rapidement ; déjà après 48 heures le Tyrode est troublé. Après 24 ou 36 heures, les préparations, après qu'on les a laissé se réchauffer dans du Tyrode oxygéné à 38° C pendant une demi-heure à trois-quarts d'heure, ont une activité spontanée tout à fait semblable aux préparations fraîches. Elles ont une beaucoup plus grande sensibilité à l'acétylcholine. Elles répondent par de fortes contractions, et avec beaucoup de régularité, à des concentrations de 10^{-8}; après 48 heures, la préparation peut ne plus présenter d'activité spontanée. Celle-ci est réveillée, bien souvent, par quelques doses d'acétylcholine ou d'érésine. La sensibilité à l'acétylcholine est toujours plus grande que celle de la préparation fraîche. Au delà de 90 heures, la préparation ne présente plus aucune activité spontanée et celle-ci ne réapparaît pas. La préparation est tout à fait atonique, et elle s'est allongée de quelques centimètres par rapport à sa longueur au moment du prélèvement. L'ésérine n'y fait réapparaître aucun tonus. Il faut employer des concentrations de 10^{-6} ou de 10^{-5} d'acétylcholine pour obtenir une contraction de faible amplitude.

Dosage biologique de l'aneurine :

Nous tenons à exprimer notre vive reconnaissance à M. le Professeur Schopfer, directeur de l'Institut de botanique de l'Université de Berne, et à Mademoiselle Besson, qui ont eu la grande obligeance de doser l'aneurine des échantillons de liquide de perfusion que nous leur avons fournis avec la méthode la plus sensible et tout à fait spécifique de la croissance de lactobacillus fermentum sur milieu Difco, selon la technique décrite par Sarett et Cheldelin (29).

Stimulation du nerf vague du cœur de grenouille et prélèvement d'échantillons de liquide de perfusion

Nous avons utilisé soit la technique décrite par Wyss (5) et employée par Cottier et v. Muralt (25) de la stimulation du tronc vago-sympathique, soit la technique décrite aussi par Wyss (6) de la stimulation du noyau d'origine du vague, dans la moelle allongée. Dans le premier cas, les électrodes de stimulation sont placées sous le tronc vago-sympathique, dans son parcours le long de la carotide commune. Dans le deuxième cas, elles sont mises au contact du segment approprié de la moelle allongée, après que la paroi postérieure du crâne a été ôtée et que le reste de la moelle a été complètement détruit. Dans les deux cas, le cœur est utilisé *in situ*. Une canule de Symes est introduite jusque dans le ventricule, selon la méthode de Straub. Les stimulateurs utilisés ont été soit celui de Weidmann, soit une bobine d'induction. L'effet de chaque stimulation sur l'activité du cœur a été enregistré graphiquement. Les échantillons provenant d'un cœur et devant être essayés sur l'intestin isolé de rat ont été corrigés de la façon suivante : à une partie de Ringer pour grenouille était ajoutée une demi-partie d'un liquide de correction qui rendait la composition du mélange obtenu exactement semblable et de même pH que le Tyrode.

RÉSULTATS

Expériences avec l'intestin isolé du rat :

Avec Bayo et Holmdahl, nous avons confirmé l'observation, faite en premier lieu par Cardoso (30), que l'aneurine à haute concentration (10^{-4}, éventuellement 10^{-5}) donnée à l'intestin contracté par l'acétylcholine provoque une relaxation soudaine. A des concentrations identiques, l'aneurine, appliquée en même temps que l'acétylcholine diminue l'action de celle-ci.

Nous avons tout d'abord étudié l'action de ces mêmes doses d'aneurine donnée pendant *l'activité spontanée*.

Fig. 1

Prép. fraîche 1. an. 10^{-4} 2. ac. 10^{-7}	Prép. fraîche 1. an. 10^{-4} 2. $CaCl_2$ 18 mg. 3. an. 10^{-4}	Prép. refroidie 82 heures 1. an. 10^{-4}	Prép. fraîche 1. an. 10^{-4} 2. ac. 10^{-7}	1. ésérine 10^{-8} 2. ésérine 10^{-7} 3. an. 10^{-4}

Sur la préparation fraîche, la thiamine à des concentrations inférieures à 10^{-5} est sans effet. Aux concentrations parfois de 10^{-5}, et régulièrement de 10^{-4}, elle provoque une diminution soudaine de tonus sans modification notable de l'ampleur du péristaltisme (fig. 1, A et B). On peut augmenter le tonus d'une préparation en donnant de faibles concentrations d'ésérine (10^{-7}). La relaxation que provoque l'aneurine dans cet état de tonus augmenté est plus profonde que celle obtenue avant l'application d'ésérine (fig. 1, D). Sur une préparation dont le

plexus autonome ne produit plus d'acétylcholine, après qu'elle a été maintenue au froid pendant par exemple 82 heures, on constate que l'aneurine ne produit plus de relaxation (fig. 1, C). Une préparation refroidie moins longtemps peut, sitôt après son réchauffement, ne pas présenter d'activité spontanée; dans ce cas, elle ne se relâche pas sous l'effet de l'aneurine. Si l'on parvient à réveiller l'activité du plexus, avec de l'ésérine ou de l'acétylcholine, ce qui provoque une augmentation de tonus, on obtient à ce point-là une relaxation aneurinique.

Tous ces faits, relaxation pendant l'activité spontanée, relaxation à condition qu'il y ait production d'acétylcholine par le plexus autonome, laissent envisager deux hypothèses : ou bien l'aneurine empêche l'acétylcholine endogène d'agir, ou bien elle freine la production d'acétylcholine.

L'aneurine produit une relaxation nette lorsqu'elle est ajoutée à *l'intestin déjà contracté* par l'acétylcholine (fig. 2, A), la choline et la pilocarpine, substances qui stimulent directement le muscle lisse, ou par le $BaCl_2$, l'ésérine et l'histamine qui, d'après Ambache (28) renforcent l'activité du plexus autonome. Une autre manifestation de cet antagonisme vis-à-vis de l'acétylcholine exogène est la contraction moindre que produit l'acétylcholine si elle est donnée avec ou après l'aneurine (fig. 2, A).

Fig. 2

Prép. fraîche
1. ac. 10^{-7} + an. 10^{-4}
1 ac. 10^{-7}
2. an 10^{-4}
1. an. 10^{-4}
2. ac. 10^{-7}

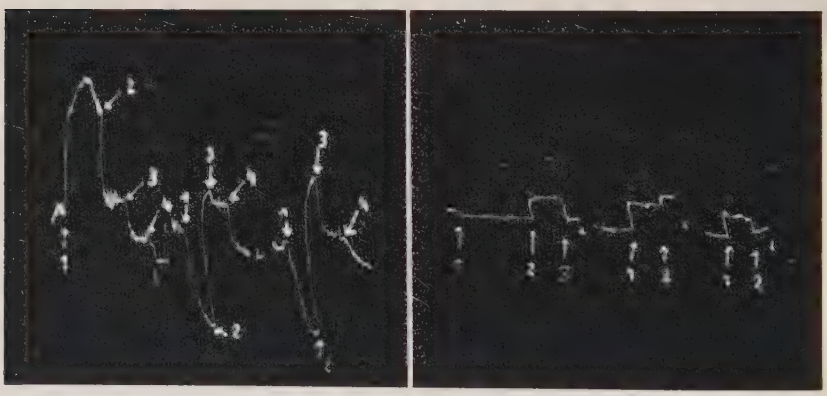
Prép. fraîche ésérinée
1. ésérine 10^{-8}
2. ac. 10^{-8}
3. an. 10^{-4}
1. ac. 10^{-8}
2. an. 10^{-5}

Le fait que la relaxation par l'aneurine se maintient en présence d'ésérine (fig. 2, B), montre que l'aneurine n'agit pas par le relais de la cholinestérase comme Cardoso le pense (30). Ce qui a été confirmé par les résultats en présence de DFP (24).

Pour préciser le *point d'action de l'aneurine*, pour savoir si elle agissait en modifiant l'activité du plexus autonome, ou si elle inhibait l'action de l'acétylcholine au niveau de l'effecteur musculaire, nous avons comparé son action à celle du $CaCl_2$.

G. L. Brown et W. Feldberg (31) ont montré : a) que de petites doses de potassium injectées dans le liquide de perfusion du ganglion cervical supérieur augmentent la réponse du ganglion à une vollée unique de stimuli submaximaux des fibres préganglionnaires ; b) que le potassium produit une libération d'acétylcholine, qui apparaît dans le liquide de perfusion, dans le ganglion normalement inervé ; et c) que le calcium inhibe cette libération d'acétylcholine par les ions potassium. Ambache (28) constate que le $CaCl_2$ inhibe l'activité spontanée de la préparation intestinale fraîche. Le tonus baisse soudainement, l'ampleur du péristaltisme est grandement diminuée. Après le lavage on observe, au contraire, un rebound : le péristaltisme est plus ample et prononcé. Le $CaCl_2$ empêche d'agir les substances d'action indirecte (celles qui renforcent l'activité du plexus autonome). Dans la période de rebound, elles agissent mieux. La conclusion d'Ambache (28) est que le $CaCl_2$ empêche la synthèse et la libération d'acétylcholine aux terminaisons nerveuses.

Fig. 3



Prép. fraîche
1. ac. 10^{-7}
2. $CaCl_2$ 18 mg.
3. an. 10^{-4}
4. $CaCl_2$ 18 mg.

1. $CaCl_2$ 37 mg.
2. ac. 10^{-7}
3. $CaCl_2$ 18 mg.
4. an. 10^{-4}

1. $CaCl_2$ 37 mg.
2. ac. 10^{-7}
3. an. 10^{-4}
4. $CaCl_2$ 18 mg.

Prép. maintenue à 1° C 82 h.
1. ésérine 10^{-7}
2. ac. 10^{-7}
3. an. 10^{-4}

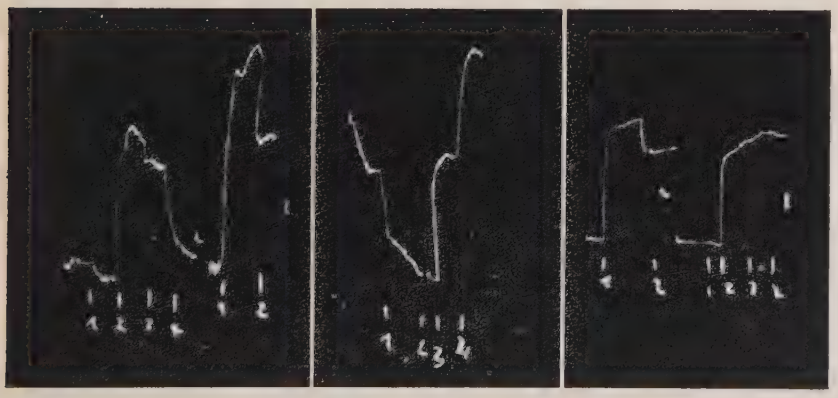
1. ac. 10^{-6}
2. $CaCl_2$ 18 mg.

1. ac. 10^{-6}
2. an. 10^{-4}

Confirmant ces faits, nous avons constaté que le $CaCl_2$ ne provoque une relaxation que lorsque le plexus est en fonction. Sa mise hors-jeu par un séjour prolongé au froid (fig. 3, B) ou son inhibition préalable par une forte dose de $CaCl_2$ (fig. 3, A) fait disparaître cet effet. Par contre, la relaxation par l'aneurine pendant la contraction acétylcholinique subsiste sur la préparation dont le plexus ne fonctionne plus, ou en présence d'une forte dose de $CaCl_2$ (fig. 3).

Pour confirmer ces résultats qui montrent que l'aneurine n'agit pas en modifiant l'activité du plexus autonome, nous avons étudié l'action de l'aneurine en présence de nicotine. A faible dose celle-ci stimule l'activité des cellules ganglionnaires : à des doses plus fortes elle les paralyse et a une action curarisante sur la plaque motrice. L'indice de la paralysie du plexus par la nicotine est que le $CaCl_2$ ne produit plus de

Fig. 4



Prép. fraîche
1. tart. nic. 5 mg.
2. ac. 10^{-7}
3. an. 10^{-4}
4. $CaCl_2$ 18 mg.

1. ac. 10^{-7}
2. an. 10^{-4}

1. tart. nic 100 mg.
2. ac. 10^{-7}
3. ac. 10^{-6}
4. $CaCl_2$ 18 mg.

Prép. refroidie 130 h.
1. ac. 10^{-6}
2. an. 10^{-4}

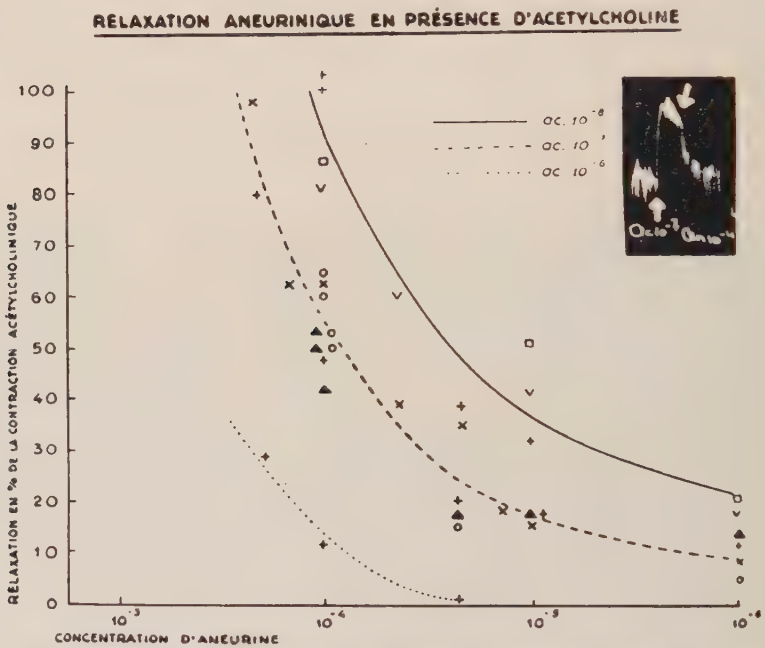
1. t. nic. 5 mg.
2. ac. 10^{-6}
3. an. 10^{-4}
4. $CaCl_2$ 18 mg.

relaxation, mais au contraire une contraction (fig. 4, B). L'indice de l'action curarisante est qu'il faut employer des concentrations 10 à 100 fois plus fortes d'acétylcholine pour obtenir une réponse de l'intestin (fig. 4, B).

Nous avons constaté que des concentrations de tartrate de nicotine bien insuffisantes pour paralyser les cellules ganglionnaires rendent l'aneurine incapable d'exercer son action (fig. 4, A et fig. 6), et que cette inhibition par la nicotine est constatée aussi sur la préparation qui a séjourné au froid (fig.

4, C). Cette inhibition ne se fait donc pas par le relais d'une paralysie du plexus, et la conclusion que l'aneurine est un antagoniste de l'acétylcholine au niveau de l'effecteur peut être maintenue.

Y a-t-il des *rapports quantitatifs*, d'une part entre la grandeur de la relaxation et la concentration d'aneurine utilisée, et d'autre part entre la grandeur de la relaxation et la concentration d'acétylcholine qui a provoqué la contraction de l'intestin ? Läser (21) a trouvé sur le cœur de grenouille, que la

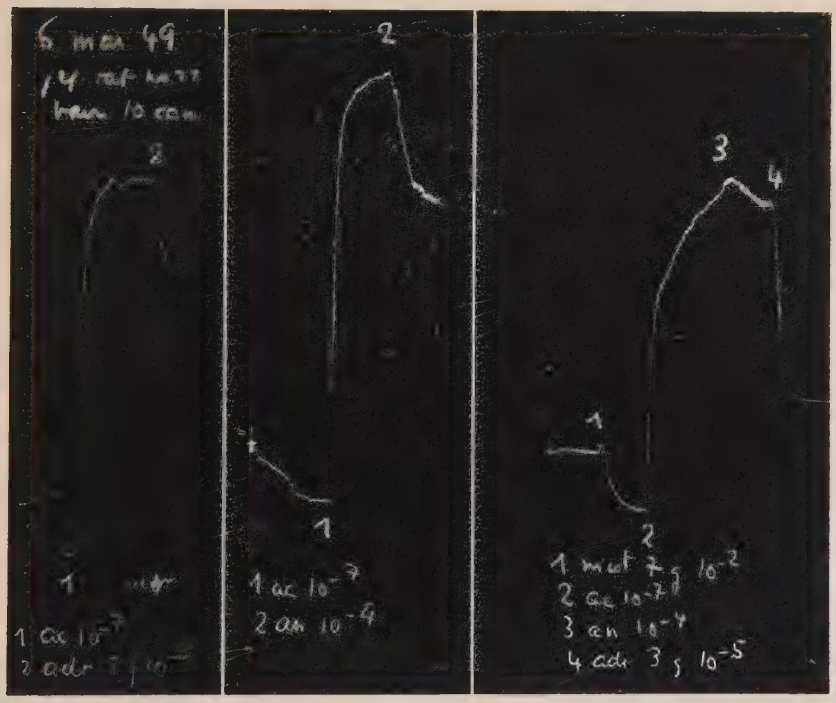


Chaque signature est utilisée pour reporter les résultats obtenus avec une même préparation. Les prépar. ∩ V ont travaillé en présence d'acétylcholine 10^{-8}. Les prépar. × ▼ O, en présence d'ac. 10^{-7}. La prépar. +, en présence d'ac. 10^{-6}, 10^{-7}, 10^{-8}.

Fig. 5

même concentration d'aneurine diminue du même pourcentage l'effet inotrope de doses différentes d'acétylcholine. Ainsi une concentration d'aneurine de 10^{-5} fait diminuer l'effet inotrope d'acétylcholine 10^{-9} de 60 à 50 % (100 étant la hauteur de la contraction normale du cœur) et l'effet inotrope d'acétylcholine 10^{-8} de 100 à 90 %. La différence est dans les deux cas de 10 %. L'aneurine 5.10^{-5} produit une différence de 25 %, et l'aneurine 10^{-4} une différence de 50 %. Il en conclut que l'ac-

tion anticholinergique de l'aneurine ne dépend que de la concentration d'aneurine, ce qui est inexact. C'est parce qu'il exprime l'effet anticholinergique en pour-cent de la hauteur de la contraction normale. Nous avons trouvé que, pour la même dose d'acétylcholine, la relaxation, mesurée en pour-cent de la hauteur de la contraction acétylcholinique, dépend de la concentration de l'aneurine. Mais que la même dose d'aneurine produit une relaxation proportionnellement d'autant plus forte que la concentration d'acétylcholine est plus faible.



La relaxation aneurinique manque en présence de tartrate de nicotine. L'action de l'adrenaline subsiste inchangée.

Fig. 6

Sur le graphique de la fig. 5, nous avons reporté les résultats obtenus avec des préparations différentes provenant de rats différents pendant quelques jours d'expérimentation. On voit comment ils se groupent, mettant clairement en évidence les rapports quantitatifs énoncés. Un tel graphique permet de préciser une concentration inconnue d'aneurine entre 10^{-6} et 10^{-4}. Ainsi il est possible de déceler l'effet relaxateur

d'une concentration de 10^{-6} d'aneurine, si l'on travaille en présence d'une concentration d'acétylcholine de 10^{-8}. (Il faut soit sensibiliser à l'acétylcholine une préparation fraîche, par l'ésérine, soit utiliser une préparation maintenue au froid pendant 24 ou 48 heures.) Il n'a pas été possible, même en présence de concentrations encore moindres d'acétylcholine, préparations refroidies, très sensibles) d'obtenir un effet relaxateur relativement plus prononcé que pour une concentration de 10^{-8} d'acétylcholine.

L'adrénaline, donnée au repos ou pendant la contraction acétylcholinique, produit, aux doses appropriées, une relaxation difficile à distinguer de celle de l'aneurine. Ni le Dihydroergotamine 45, à des concentrations variant de 10^{-6} jusqu'à 10^{-4}, appliqué avant l'adrénaline, ou mis en contact pendant des heures avec la préparation dans des bains répétés, ni d'autres dihydroalcaloïdes de l'ergot de seigle, utilisés dans les mêmes conditions, ne permettent d'empêcher l'adrénaline d'agir, contrairement aux résultats de Rothlin sur l'intestin de lapin (32). Le tartrate de nicotine qui, à des doses appropriées, inhibe complètement l'action relaxatrice de l'aneurine, laisse intacte celle de l'adrénaline (fig. 6).

Raaflaub (20) et Läser (21) ont montré que l'inhibition de l'action de l'acétylcholine sur le cœur de grenouille n'était pas une propriété spécifique de l'aneurine, mais que les constituants de sa molécule, pyrimidine et thiazol, pouvaient, à condition qu'ils aient quelques fonctions bien déterminées, exercer le même effet. Ces résultats se sont confirmés sur l'intestin isolé de rat. Tout particulièrement nous avons constaté que la cocarboxylase aux concentrations de 10^{-4} et 10^{-5} ne possède pas de propriété anticholinergique.

Mise en évidence de la deuxième substance d'action vagale par le test de Lactobacillus fermentum

Un seul dosage a pu être effectué. Quatre solutions de 10 cm^3 chacune ont été comparées quant à leur teneur en aneurine. La première solution, dite vagale, était constituée par le mélange de 14 échantillons de Ringer. Chacun de ces échantillons avait séjourné dans la canule pendant une période de stimulation des fibres vagales. La stimulation agissait sur le noyau d'origine du vague dans la moelle allongée, était intermittente mais de forte intensité afin de produire l'arrêt en

diastole du cœur et durait 5 à 6 minutes. Après son prélèvement, l'échantillon était centrifugé, afin de le débarrasser des globules rouges qu'il contenait. En effet, malgré un grand nombre de lavages avant que l'on commençât à prélever les échantillons de stimulation il était impossible d'éviter l'apparition de traces de sang dans le liquide de perfusion. Après la centrifugation, l'échantillon était ajouté à ceux obtenus précédemment et conservé à 2° C.

La deuxième solution, dite de repos, était constituée par 14 échantillons de Ringer, ayant séjourné chacun dans la canule pendant une période d'activité normale du cœur de même durée que la période de stimulation vagale correspondante. Les échantillons de repos étaient centrifugés, car ils contenaient aussi des traces de sang, et conservés à 2° C.

Le prélèvement des échantillons a duré 7 heures, et quatre grenouilles ont été utilisées successivement. La stimulation du noyau d'origine du vague pouvait être maintenue pour chaque préparation pendant trois à quatre périodes de 5 minutes.

Afin d'éviter une destruction de l'aneurine en milieu alcalin, et pour obtenir le pH. optimum à la croissance de lactobacillus fermentum, le pH. du Ringer était maintenu à 6,5.

La troisième et la quatrième solution était du Ringer auquel avait été ajouté du sang frais de grenouille aux concentrations respectivement de 1:1000 et 1:10000. Après que le sang eut été laissé en suspension dans le Ringer pendant 10 minutes, les solutions étaient débarrassées des globules rouges par centrifugation, puis conservées au froid.

Le rapport du professeur Schopfer a été le suivant : Solution dite de repos : rien. Solution dite vagale : traces nettes d'aneurine mais difficilement mesurables ; le taux ne doit pas dépasser 1-2 mγ cm³. Solution de sang 1:1000 : rien. Solution de sang 1:10000 : rien.

Ce résultat, isolé, confirme les mesures de Wyss et v. Muralt [5]. Il montre que la deuxième substance d'action vagale est bien de l'aneurine, ce qu'attestait déjà la concordance entre les résultats du test de croissance de Phycomyces et les dosages du thiochrome par fluorométrie. La concentration de sang dans les échantillons vagaux est comprise entre 1:1000 et 1:10000, celle des échantillons de repos est de 1:10000 environ. Puisqu'il n'y avait aucune aneurine dans les solutions 3 et 4, la présence d'aneurine dans les échantillons vagaux ne résulte pas des traces de sang qu'ils contenaient, ni du fait qu'ils contenaient des traces de sang un peu plus fortes que les échantillons de repos.

Expériences de transfert sur un cœur receveur d'échantillons ayant séjourné dans un cœur donneur

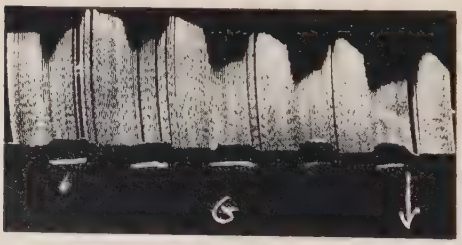
Cottier et v. Muralt (25) ont observé les propriétés anticholinergiques d'échantillons prélevés dans le cœur donneur à la suite d'une période de stimulation du tronc vago-sympathique, dont le résultat, selon eux, était purement vagal. Nous avons recherché les éventuelles propriétés anticholinergiques d'échantillons de Ringer ayant séjourné dans des cœurs soumis à divers types de stimulation indirecte. Ceci pour préciser à nouveau à la suite de quel type de stimulation ces échantillons avaient acquis des propriétés anticholinergiques. Les périodes de stimulation duraient généralement 5 minutes. La stimulation, intermittente le plus souvent, devait produire un résultat bien net. Les divers modes de stimulation indirecte ont été les suivants:

A. Stimulation du tronc vago-sympathique :

D'après l'enregistrement graphique, le résultat d'une telle stimulation peut être d'apparence vagale (fig. 7) ou d'apparence mixte (fig. 8). Après qu'une stimulation intermittente du tronc

Période de stimulation d'apparence vagale.
Après atropinisation la composante sympathique est démasquée.

Fig. 7

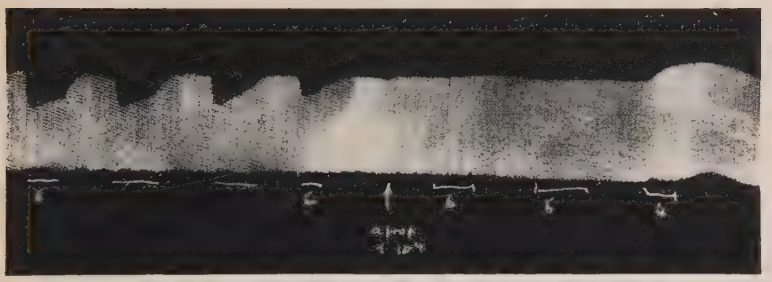


Période de stimulation d'apparence mixte.

Fig. 8

vago-sympathique a provoqué, d'après l'enregistrement sur le kymographe, un effet en apparence purement vagal, on observe, après atropinisation du cœur, et en répétant le même stimulus qu'auparavant, que celui-ci provoque un effet inotrope positif (fig. 7). La composante sympathique d'une telle stimulation peut donc être démasquée après atropinisation et, quelle que soit l'apparence de l'enregistrement d'une période de stimulation du tronc vago-sympathique, il faut compter avec l'apparition dans le liquide de perfusion des médiateurs chimiques vagaux et sympathiques.

B. Stimulation du noyau d'origine du vague, dans la moelle allongée.



Exemple d'enregistrement d'une période de stimulation du noyau d'origine du vague. Après atropinisation une composante sympathique n'apparaît que lorsque la bobine secondaire est rapprochée de 2 cm.

Fig, 9

Avec la méthode décrite, l'on obtient régulièrement une stimulation élective des fibres vagales. En effet, après atropinisation du cœur, et lorsque l'on répète le même stimulus qu'antérieurement, on ne constate pas la présence d'une composante sympathique. Celle-ci n'apparaît que si l'intensité du stimulus est à ce point augmentée que les fibres de la chaîne sympathique qui pénètre dans la cavité crânienne soient aussi stimulées (fig. 9).

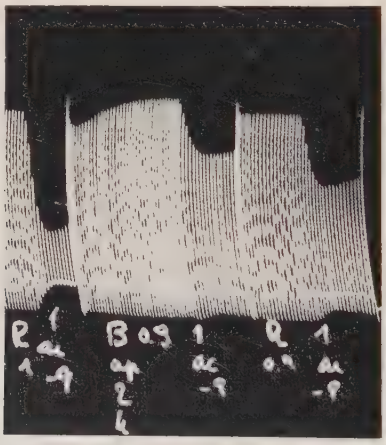
Nous avons également recherché les éventuelles propriétés anticholinergiques d'échantillons de Ringer ayant séjourné dans le cœur pendant une période d'activité normale, (échantillons dits de repos) ou immédiatement à la suite d'une stimulation mixte après laquelle le Ringer de la canule n'a été changé qu'une ou deux fois (échantillons dits de premier lavage, fig. 10). Nous avons employé des échantillons de premier lavage pour obtenir de la sympathine dont l'action ne soit pas complètement masquée par la présence d'acétylcholine, comme c'est

F Echantillon de premier lavage. Remarquer l'effet chronotrope positif en comparaison de la période de repos vrai (Ri).

Fig. 10

souvent le cas dans des échantillons de stimulation mixte. En effet il est plus difficile d'éliminer par des lavages répétés la sympathine que l'acétylcholine. Après avoir renouvelé le Ringer de la canule une, ou même plusieurs fois, le cœur continue à battre avec plus de force que pendant les périodes de repos (fig. 10). De la sympathine est encore fixée aux cellules cardiaques, et elle diffuse dans les échantillons de premier lavage. Ceux-ci sont en effet capables de produire un effet inotrope positif, ou d'exercer une action anticholinergique sur un cœur receveur.

Les autres facteurs dont il faut tenir compte pour le classement des résultats sont :



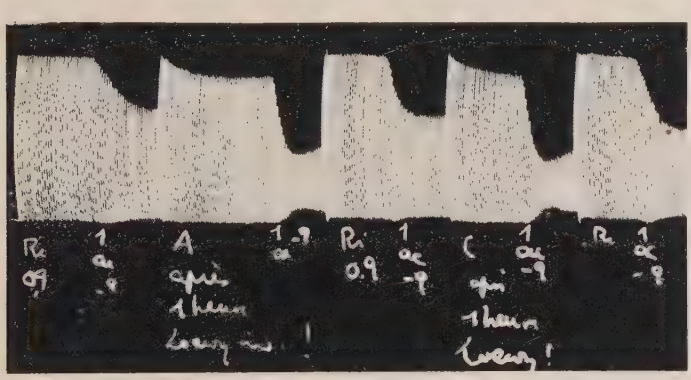
B Echantillon provenant d'une période de stimulation mixte, provoque après 2 h. de dépôt un effet inotrope positif et a une action anticholinergique. R = Ringer.

Fig. 11

1. Le délai après lequel l'échantillon prélevé a été donné au cœur receveur.

2. L'action de l'échantillon sur le cœur receveur, (sans action, effet inotrope positif ou négatif [fig. 11 et 12]).

3. L'influence exercée sur la réponse du cœur receveur à une dose d'acétylcholine dont l'effet est connu en présence de Ringer normal. (L'échantillon peut soit sensibiliser le cœur à l'acétylcholine, soit ne pas modifier sa réponse, soit exercer un effet anticholinergique [fig. 11 et 12]).



A et C provoquent, après une heure, un effet inotrope négatif, et sensibilisent le cœur à l'acétylcholine.

Fig. 12

2 et 3 ont été observés successivement : l'échantillon est donné au cœur receveur ; on attend que son effet se manifeste ou ne se manifeste pas, puis l'on ajoute une goutte d'acétylcholine dont l'effet en présence de Ringer normal est connu.

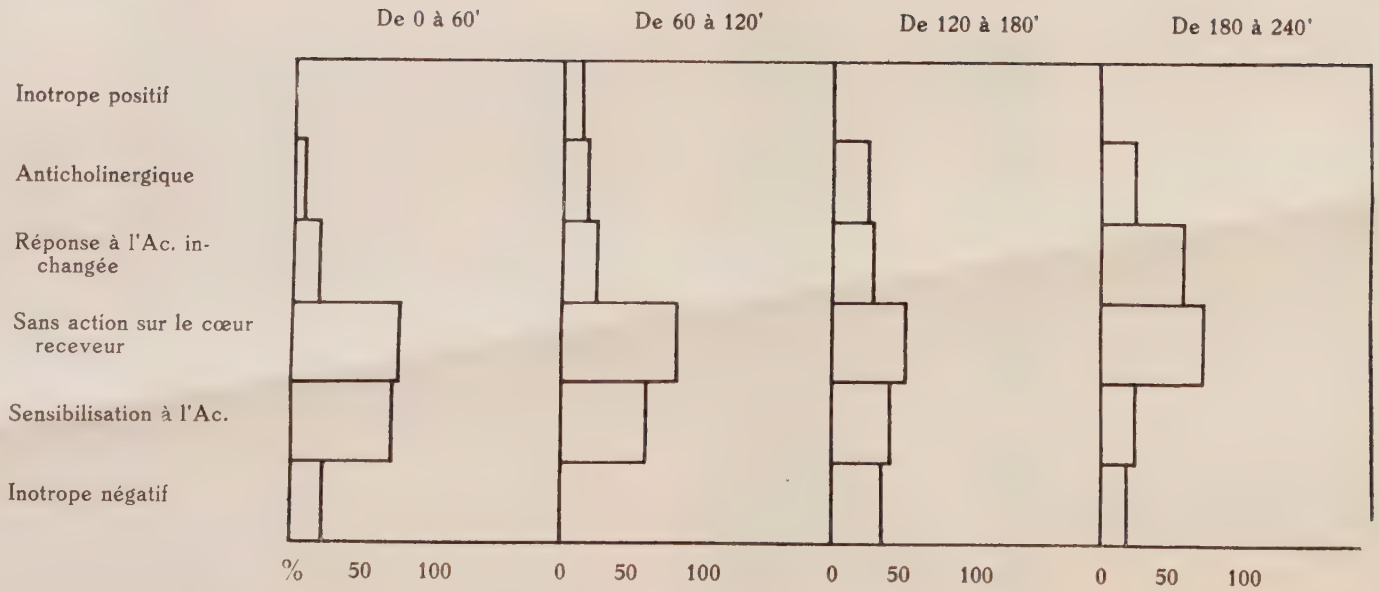
Résultats des expériences de transfert.

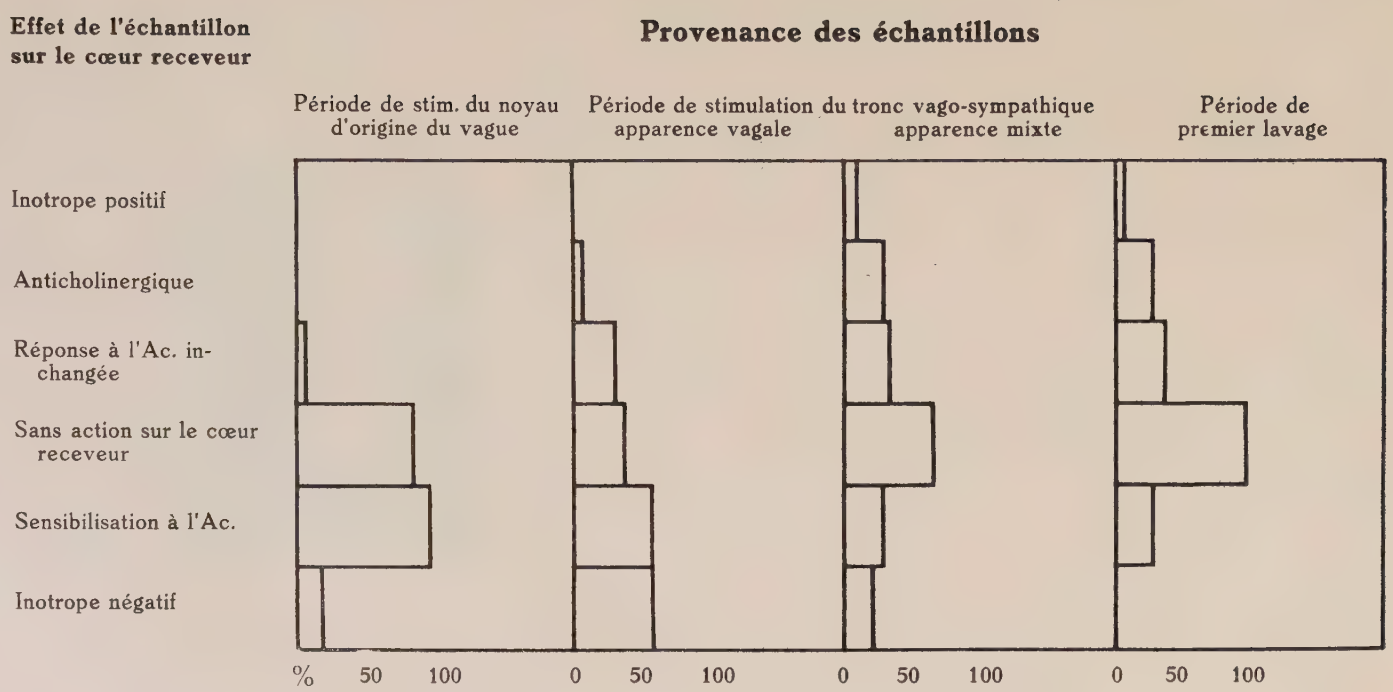
Les échantillons provenant de périodes de repos vrai étaient sans action et ne modifiaient pas la réponse du cœur receveur à l'acétylcholine.

Pour connaître l'influence que peut exercer le délai qui s'écoule entre le prélèvement de l'échantillon et le moment où il est donné au cœur receveur (qui peut être le même que celui où l'échantillon a été obtenu), nous avons reporté nos résultats, en fonction de la durée de dépôt, dans le graphique 1. 23 échantillons ont été essayés dans la première heure après leur prélèvement, 16 dans la deuxième, 21 dans la troisième et

Effet de l'échantillon sur le cœur receveur

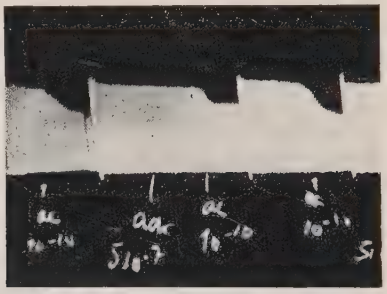
Durée de dépôt




Effet de l'échantillon sur le cœur receveur
Provenance des échantillons
Période de stim. du noyau d'origine du vague
Période de stimulation du tronc vago-sympathique apparence vagale
apparence mixte
Période de premier lavage
Inotrope positif
Anticholinergique
Réponse à l'Ac. inchangée
Sans action sur le cœur receveur
Sensibilisation à l'Ac.
Inotrope négatif
%
50
100
0
50
100
0
50
100
0
50
100

18 dans la quatrième. Les effets qu'ils ont produits sont exprimés par des blocs, dont les hauteurs correspondent au pourcentage de cas dans lesquels l'effet est apparu. On constate que jusqu'à la fin de la troisième heure, il n'y a pas d'augmentation des résultats « indifférents » par rapport aux résultats exprimant une influence de l'échantillon sur le cœur receveur ou sur la réponse de celui-ci à l'acétylcholine. Cela signifie que les médiateurs chimiques ne sont pas inactivés dans les premières heures, lorsque l'échantillon est conservé à la température du laboratoire. Puisque les médiateurs chimiques ne sont pas inactivés rapidement, et qu'ils ne semblent pas être inactivés à des vitesses différentes, nous avons groupé tous nos résultats dans le graphique 2, en tenant compte du caractère de la période à la suite de laquelle l'échantillon est prélevé. On fait les constatations suivantes :

Une action anticholinergique n'est exercée que par des échantillons provenant de périodes de stimulation mixte ou de premier lavage. Une telle action n'est jamais exercée par les échantillons provenant de périodes de stimulation du noyau d'origine du vague. Ces échantillons, par contre, produisent dans presque tous les cas une sensibilisation du cœur receveur à l'acétylcholine. Les effets inotrope positif et inotrope négatif sont obtenus dans un moindre pourcentage de cas que la sensibilisation à l'acétylcholine ou l'action anticholinergique. Les échantillons qui ne modifient pas l'activité du cœur sont au contraire les plus nombreux. Ceci signifie qu'il faut une concentration plus forte d'acétylcholine, ou un excès plus grand d'acétylcholine par rapport à la sympathine pour produire un effet inotrope négatif qu'une sensibilisation à l'acétylcholine, et un excès plus grand de sympathine par rapport à l'acétylcholine



Exemple d'une dose d'adrenaline qui exerce une action anticholinergique, sans provoquer d'effet inotrope positif.

Fig. 13

pour obtenir un effet inotrope positif qu'une action anticholinergique. Nous avons vérifié le dernier point : la dose d'adrénaline qui exerce un effet anticholinergique, sur un cœur isolé, est moindre que celle qui provoque un effet inotrope positif (fig. 13). Le fait que des doses d'acétylcholine sous-liminaires pour provoquer un effet inotrope négatif sensibilisent le cœur à l'acétylcholine a été signalé par Scheinfinkel (33).

En résumé, l'action anticholinergique est provoquée seulement par des échantillons qui peuvent contenir de la sympathine, émise aux extrémités des fibres sympathiques stimulées en même temps que les fibres vagales et à condition qu'il y ait un excès suffisant de sympathine pour que son action prédomine sur celle de l'acétylcholine. Ces conditions se rencontrent le plus souvent dans les échantillons provenant de périodes de stimulation d'apparence mixte et de premier lavage, et quelquefois dans des échantillons provenant de périodes de stimulation mixte, mais d'apparence vagale.

Nous avons cherché dans quelle mesure nous avions le droit d'attribuer les effets anticholinergiques à la présence d'une dose suffisante de sympathine. Voici un tableau récapitulatif de tous les cas (19 sur 87 essais) où une action anticholinergique a été observée :

1. Provenance des échantillons :

   7 de périodes de premier lavage après stimulation mixte.
   10 de périodes de stimulation mixte, d'apparence mixte.
   2 de périodes de stimulation mixte, d'apparence vagale.

2. Action des échantillons sur le cœur receveur :

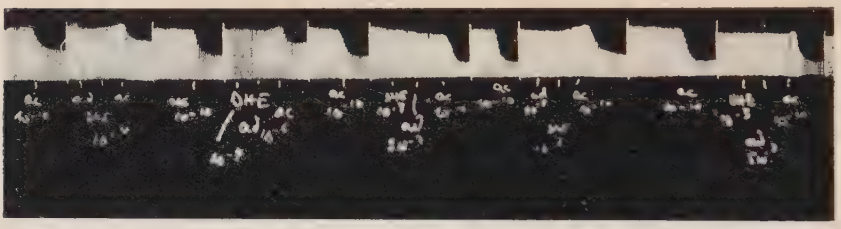
   3 provoquent un effet inotrope positif net.
   4 provoquent un effet inotrope positif léger.
   9 sont sans action. 7 de ces échantillons ont exercé une action stimulatrice sur le cœur receveur qui s'est manifestée après que l'échantillon a été ôté de la canule et remplacé par du Ringer normal.
   3 provoquent un effet inotrope négatif. On les a laissé séjourner dans le cœur receveur jusqu'à ce que la cholinesterase de celui-ci ait inactivé l'acétylcholine et que le battement du cœur ait réatteint sa hauteur normale avant d'ajouter l'acétylcholine.

Nous considérons que l'action inotrope positive et l'action stimulatrice après lavage sont le signe indubitable de la présence dans l'échantillon d'une dose suffisante de sympathine pour provoquer un effet anticholinergique. Le meilleur critère pour s'assurer qu'un effet anticholinergique est dû à de la

sympathine serait sa disparition en présence d'un agent empêchant la sympathine d'agir. C'est parce que l'effet anticholinergique observé par Cottier et v. Muralt (25) subsistait en présence de DHE 45 (dose : 5 gouttes de DHE 10^{-4}) que ces auteurs ont conclu qu'il ne pouvait être dû à la présence de sympathine. Nous avons cherché à quelles concentrations et dans quelles conditions le DHE 45 empêche l'adrénaline et la sympathine d'agir sur le cœur. Voici nos résultats :

1. Influence du DHE sur l'effet inotrope positif que provoque une dose convenable (10^{-7}) d'adrénaline (fig. 14).

   Le DHE aux concentrations[1] de 10^{-5} et de 10^{-4} ne modifie pas l'action de l'adrénaline lorsqu'il est ajouté après celle-ci au liquide de la canule. Lorsqu'il est ajouté avant l'adré-



Une goutte de DHE 10^{-4} ou 10^{-3}, ajoutée après l'adrénaline, n'empêche pas son action. Une goutte de DHE 10^{-4} ajoutée avant l'adrénaline n'empêche pas son action. Une goutte de DHE 10^{-3} (qui exerce un léger effet inotrope négatif), ajoutée avant l'adrénaline, empêche son action.

Fig. 14

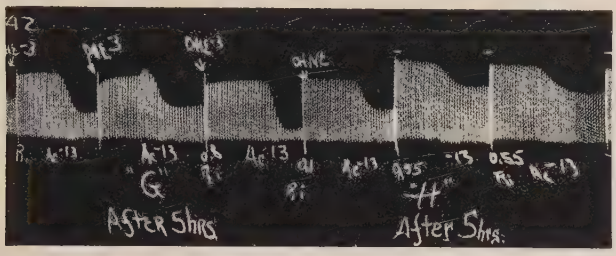
   naline, à la concentration de 10^{-5}, sur 9 essais, 4 fois il ne modifie pas l'effet inotrope positif, et 5 fois il le supprime. Lorsqu'il est ajouté avant l'adrénaline, à la concentration de 10^{-4}, sur 9 essais, 2 fois il ne modifie pas l'effet inotrope positif, 4 fois il le diminue, et 3 fois il le supprime.

2. Influence du DHE sur les actions inotrope positive et anticholinergique d'échantillons contenant de la sympathine. (Des échantillons témoins, prélevés dans les mêmes conditions et essayés en l'absence de DHE, exerçaient ces actions attribuables à coup sûr à la présence de sympathine.)

   Le DHE était ajouté à la canule vide, avant que l'échantillon à étudier n'y soit introduit. Sur 3 essais en pré-

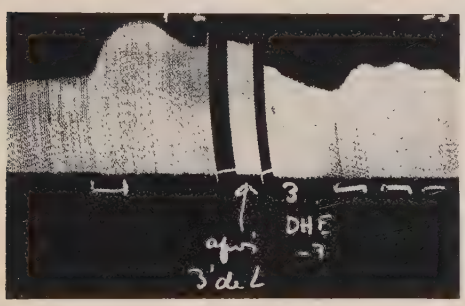
[1] Les concentrations de DHE indiquées sont celles du DHE dans le liquide de perfusion de la canule.

sence de DHE 10^{-6}, 3 fois on n'a pas observé d'inhibition de la sympathine. Sur 4 essais en présence de DHE 10^{-5}, 4 fois on n'a pas observé d'inhibition de la sympathine. Sur 9 essais en présence de DHE 10^{-4}, 2 fois il n'y a pas eu d'inhibition de la sympathine, 2 fois il y a eu une diminution, et 5 fois une suppression de son action (fig. 15).



Une goutte de DHE 10^{-3} n'empêche pas G, échantillon contenant, comme H, de la sympathine, d'exercer une action anticholinergique.

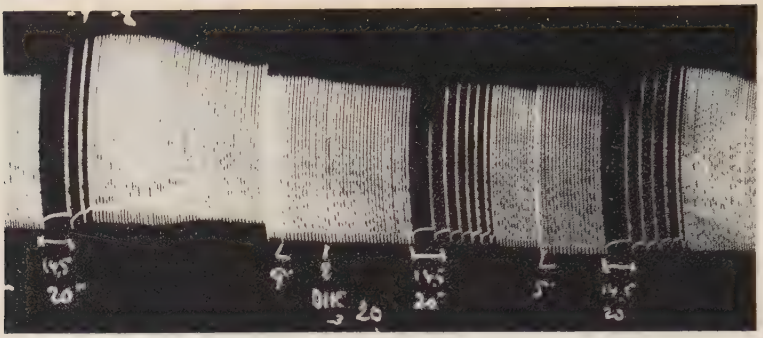
Fig. 15



Malgré 3 gouttes de DHE 10^{-3}, la composante sympathique du stimulus subsiste. Noter l'effet inotrope négatif du DHE. Cœur atropinisé.

Fig. 16

3. Influence du DHE sur le résultat d'une stimulation mixte. Si on atropinise le cœur, le résultat de la stimulation s'exprime uniquement par des effets inotropes et chronotropes positifs. Nous avons cherché à les supprimer en donnant du DHE avant la stimulation. En présence de DHE 10^{-6} et 10^{-5}, la composante sympathique subsiste toujours. Sur 12 essais en présence de DHE 10^{-4} 11 fois la composante sympathique a subsisté (fig. 16), et une dose de 3.10^{-4} a permis de la supprimer 1 fois (fig. 17). Il faut noter qu'à



Deux gouttes de DHE 10^{-3} font presque disparaître la composante sympathique d'une stimulation mixte.

Fig. 17

ces doses-là, le DHE exerce une action inotrope négative qui rend l'interprétation de son action sur la sympathine plus douteuse.

Ces quelques résultats autorisent à conclure que l'on ne peut pas affirmer que, sur le cœur de grenouille, le DHE, même à très fortes concentrations, inhibe à tout coup l'action de la sympathine ou de l'adrénaline. On ne peut donc l'utiliser comme moyen révélant si un effet anticholinergique est dû ou non à la présence de sympathine.

Expériences de transfert d'échantillons d'un cœur donneur au bain d'un intestin isolé de rat

Les chances de mettre en évidence l'éventuelle action anticholinergique de la deuxième substance d'action vagale avec le test de la relaxation de l'intestin isolé de rat étaient minimes. L'action anticholinergique sur le cœur receveur de grenouille, que Cottier et v. Muralt (25) ont attribuée à l'aneurine vagale, était comparable, au maximum, à celle de l'aneurine synthétique à la concentration de 5.10^{-5}. Du fait que le bain où est suspendu l'intestin isolé de rat ne pouvait être réduit à moins de 8 ou 9 cm^3 de capacité, l'échantillon provenant du cœur donneur était dilué 9 à 10 fois lorsqu'il était ajouté à ce volume de Tyrode. On pouvait donc s'attendre à des effets comparables à ceux de l'aneurine synthétique à une concentration ne dépassant pas 5.10^{-6}.

Voici nos résultats :

Sur 47 essais de transfert, où tous les échantillons provenaient de périodes apparemment vagales, mais dont la composante sympathique pouvait être mise en évidence après atropinisation, 6 fois un effet relaxateur a été obtenu, moindre que celui que provoquait l'aneurine à la concentration de 10^{-5}. L'éventualité que cet effet relaxateur était dû à la sympathine ne peut pas être exclue. Une dose d'adrénaline qui provoquait sur l'intestin contracté une relaxation comparable à celle produite par les échantillons, ne provoquait pas sur le cœur donneur un effet inotrope positif aussi prononcé que la composante sympathique du stimulus, après atropinisation. Les échantillons pouvaient donc contenir une dose suffisante de sympathine pour produire la relaxation observée.

DISCUSSION

Cottier et v. Muralt (25) attribuent à l'aneurine vagale l'effet anticholinergique qu'ils ont observé. Elle seule pouvait l'exercer, disent-ils, puisqu'ils ont utilisé des échantillons provenant d'une période de stimulation, selon eux, purement vagale, et qu'ils ont attendu, avant de les employer, une ou deux heures, pour que l'acétylcholine (qui aurait masqué l'action de l'aneurine) soit hydrolysée. L'éventualité que la sympathine soit la cause de l'effet anticholinergique observé était éliminée par la provenance des échantillons et le fait que cet effet anticholinergique subsistait en présence de 5 gouttes de DHE 10^{-4} dans la canule. Les faits suivants, qui découlent de nos expériences, réfutent cette manière de voir.

A. Une stimulation qui, d'après l'enregistrement sur le kymographe, semble produire un effet purement vagal (c'était le critère utilisé par Cottier et v. Muralt (25) pour choisir les échantillons qu'ils pouvaient utiliser), peut révéler, après atropinisation du cœur, qu'elle stimule aussi les fibres sympathiques. De tels échantillons contiennent de la sympathine et peuvent, comme nous l'avons observé, exercer, de ce fait, une action anticholinergique.

B. Des échantillons provenant d'une période de stimulation du noyau d'origine du vague, ne contenant aucune sympathine, ne produisent jamais d'effet anticholinergique.

C. Le DHE aux concentrations égales et inférieures à 10^{-4} n'empêche pas régulièrement l'adrénaline et la sympathine d'agir. Il ne peut donc être utilisé pour s'assurer qu'un effet est dû, ou n'est pas dû, à la sympathine. Nous ne pensons pas que l'effet inotrope positif qui persiste lors de la stimulation, en présence de DHE et d'atropine, soit dû à l'action de l'aneurine vagale. L'aneurine synthétique n'exerce, en effet, jamais d'effet inotrope positif.

D. L'acétylcholine n'est pas hydrolisée après un séjour de deux à trois heures de l'échantillon à la température du laboratoire. Une hydrolyse rapide de l'acétylcholine ne s'observe

que s'il s'agit d'extraits de cœur (Lœvi et Navratil, 31) : le cœur est broyé dans un mortier, un peu de Ringer est ajouté, et le mélange est filtré. Le filtrat contient, entre autres, de l'acétylcholine et de la cholinestérase. La présence de ce ferment entraîne la rapide hydrolyse de l'acétylcholine.

Du moment que l'acétylcholine n'est pas détruite, l'action anticholinergique de l'aneurine vagale, si elle existe, ne peut pas se manifester. Car, dans les proportions où les deux substances sont émises aux terminaisons nerveuses, l'action de l'acétylcholine prédomine sur celle, présumée inverse, de l'aneurine. Un échantillon qui exerce un effet anticholinergique alors que l'acétylcholine n'y est pas détruite doit nécessairement contenir un troisième facteur, la sympathine. Celle-ci ajoute son action à celle de l'aneurine, ou, si cette dernière n'exerce pas d'action anticholinergique, elle agit seule. Dans les deux cas, l'apparition d'un effet anticholinergique est liée à la présence de sympathine, comme nos résultats le mettent en évidence, et il est impossible de discerner si cet effet est produit par la sympathine seule, ou par la somme des actions de la sympathine et de l'aneurine.

En conclusion, l'effet anticholinergique observé par Cottier et v. Muralt était dû, en tous cas en partie, à la sympathine, et dans les conditions de leurs expériences il n'est possible ni de prouver ni d'infirmer que l'aneurine vagale exerce une action anticholinergique.

Les expériences sur l'intestin isolé de rat ne permettaient pas de mieux résoudre le problème. L'acétylcholine non hydrolysée des échantillons masquait l'éventuelle action relaxatrice de l'aneurine vagale, et seule la sympathine surajoutée permettait l'obtention d'une relaxation.

Les conditions expérimentales dans lesquelles l'éventuelle action anticholinergique de l'aneurine vagale pourrait être étudiée sont les suivantes :

1. Utilisation d'échantillons provenant de périodes de stimulation réellement purement vagale. Le seul moyen d'obtenir une stimulation élective des fibres vagales est de stimuler, selon Wyss (6), leur noyau d'origine dans la moelle allongée.

2. Parvenir à provoquer l'hydrolyse de l'acétylcholine tout en conservant intacte l'aneurine vagale. La difficulté est d'obtenir une hydrolyse rapide de l'acétylcholine sans ajouter à l'échantillon des extraits d'organe, contenant de la cholinestérase, qui influencent par eux-mêmes le cœur receveur.

RÉSUMÉ

1. Une méthode est décrite pour mettre en évidence, sur l'intestin isolé de rat, l'action relaxatrice de concentrations d'aneurine variant de 10^{-6} à 10^{-4}.

2. L'étude de cette relaxation permet de conclure que l'aneurine à haute concentration est un antagoniste de l'acétylcholine au niveau de l'effecteur musculaire, et qu'elle n'agit pas en modifiant l'activité du plexus autonome.

3. Le tartrate de nicotine à des doses appropriées empêche l'aneurine d'exercer son action.

4. Cette action antagoniste n'est pas une propriété spécifique de l'aneurine. Les constituants de sa molécule, thiazol et pyrimidine, la possèdent aussi. Elle fait défaut, par contre, à la cocarboxylase.

5. Les expériences faites par Cottier et v. Muralt (25) pour mettre en évidence l'action anticholinergique de l'aneurine vagale ont été répétées : il est apparu que l'effet anticholinergique constaté par ces auteurs était dû, partiellement en tous cas, à la sympathine, et que, dans les conditions de leurs expériences il n'est possible ni de prouver ni d'infirmer que l'aneurine vagale exerce une action anticholinergique comparable à celle de l'aneurine synthétique à hautes concentrations.

6. Les résultats de Wyss et v. Muralt (5) concernant l'apparition de traces d'aneurine dans le liquide de perfusion du cœur de grenouille soumis à une stimulation vagale sont confirmés : La méthode de la croissance de lactobacillus fermentum, d'après Sarett et Cheldelin (29), met en évidence 1 à 2 mγ d'aneurine par cm^3 de liquide de perfusion. Les échantillons provenant de période d'activité normale du cœur ne contiennent pas d'aneurine.

BIBLIOGRAPHIE

1. v. Muralt, A., et Zemp, J. : Pflügers Arch. 246, 746 (1943).
2. Liechti, A., v. Muralt, A., et Reinert, M. : Helv. Physiol. Acta 1, 79 (1943).
3. Wyss, F. : Helv. Physiol. Acta 2, 121 (1944).
4. Minz, B. : C. r. Soc. Biol. 127, 1251 (1938).
5. Wyss, F. et v. Muralt, A. : Helv. Physiol. Acta 2, C61 (1944).
6. Wyss, A. et Wyss, F. : Helv. Physiol. Acta 3, C30 (1945).
7. Moniz de Bettencourt, J., de Lourdes d'Oliveira, M., et Fragoso, J. C. : Arch. portug. Sci. biol. 8, 123 (1945).
8. Minz, B., et Agid, R. : C. r. Ac. des Sci. 205, 576 (1937).
9. Beauvalet, J., et Minz, B. : C. r. Soc. Biol. 126, 982 (1937).
10. v. Brücke, F., et Sarkander, H. : Arch. f. Exper. Path. 195, 218 (1940).
11. v. Muralt, A. : Pflügers Arch. 245, 604 (1942).
12. Binet, L. et Minz, B. : C. r. Soc. Biol. 116, 107 (1934).
13. Minz, B. : La Transmission chimique de l'influx nerveux. Flammarion 1947.
14. Minz, B. : Arch. Sc. physiol. 1 nº 2, 169 (1947).
15. Abderhalden, E. et R. : Pflügers Arch. 240, 388 (1938).
16. Sadhu, D. P. : Am. J. Physiol. 147, 233 (1946).
17. Agid, R., et Balkanyi, J. : C. r. Soc. Biol. 127, 680 (1938).
18. Kaiser, P. : Pflügers Arch. 242, 504 (1939).
19. Dufait, R. : Arch. Inter. Pharmacodyn. 66, 247 (1941).
20. Raaflaub, Hans : Dissertation, Bern (1945).
21. Läser, S. : Z. Vitaminf. 20 1/3 (1948).
22. Stämpfli, R. : Dissertation, Bern (1942).
23. Bein, H. J. : Helv. Physiol. Acta 5, 190 (1947).
24. Bayo, J. M., Holmdahl, M. et Gautier, E. : Helv. Physiol. Acta 8, 128 (1950).
25. Cottier, H., et v. Muralt, A. : Helv. Physiol. Acta 6, 222 (1948).
26. Dikshit, R. B. : Quart. J. exper. Physiol. 28, 243 (1938).

27. Sollmann, T. : Manual of Pharmacology. p. 288. Philadelphia (1927).
28. Ambache, N. : J. Physiol. 104, 266 (1946).
29. Sarett, H. P., et Cheldelin, V. H. : J. Biol. chem. 155, 153 (1944).
30. Cardoso, M. R. : Arch. portug. Sci. biol. 8, 110 (1945).
31. Brown, G. L., et Feldberg, W. : J. Physiol. 86, 210 (1936).
32. Rothlin, L. : Schw. Med. Wochenschrift 49, 1254 (1946).
33. Scheinfinkel, N. : Helv. Physiol. Acta 1, 149 (1943).
34. Loewi, O., et Navratil, E. : Pflügers Arch. 214, 678 (1926).